

ЭКСПРЕСС - МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ АЛКАЛОИДОВ ЧИСТОТЕЛА БОЛЬШОГО

Погоцкая А.А., Бузук Г.Н.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

Введение. Тест-методы – это экспрессные, простые и дешевые приемы обнаружения и определения вещества. При их использовании резко сокращается и во многих случаях отпадает необходимость в использовании дорогостоящего и сложного лабораторного оборудования и самих аналитических лабораторий. Данная группа методов применяется для анализа различных объектов, особенно при химико-экологических исследованиях, в химико-токсикологическом анализе, наркологическом и судебно-химическом анализе [1].

Тест-методы заняли достаточно прочную позицию в клинической химии. Это связано с тем, что основой целенаправленного и эффективного лечения пациентов является установление правильного и своевременного диагноза. Данные методы еще не нашли широкого применения в фармацевтическом анализе, однако в силу того, что определение лекарственных веществ и биологически активных веществ в растительных объектах зачастую является длительным и трудоемким процессом, исследования в этом направлении являются актуальными и перспективными [2].

Анализ растительных объектов сопряжен с рядом трудностей, связанных с выделением и очисткой определенной группы БАВ, т.к. в растении содержится комплекс веществ различной химической природы.

Цель данной работы состояла в разработке простого в выполнении, быстрого и дешевого метода количественного определения суммы алкалоидов в растительных объектах на примере сырья чистотела большого.

Материалы и методы. В основу тест-метода для определения суммы алкалоидов из травы чистотела большого была положена реакция алкалоидов с реактивом Драгендорфа. Этот реагент, представляющий собой комплексное соединение BiI_3 и KI , известен в различных модификациях и широко используется для обнаружения органических оснований. Реактив Драгендорфа образует окрашенные в оранжевый цвет, плохо растворимые в воде комплексы практически со всеми алкалоидами и в настоящее время широко применяется как для проявления бумажных и тонкослойных хроматограмм, так и для количественного определения алкалоидов в растворах или растительных экстрактах с помощью денситометрии.

Результаты и обсуждение. Для тест-определения суммы алкалоидов в качестве матрицы использовали агар. Первоначально была подобрана оптимальная концентрация агара, обеспечивающая достаточно быстрое его застывание в чашках Петри и не препятствующая проникновению окрашенного комплекса алкалоидов с реактивом Драгендорфа в среду, затем проводили поиск оптимального состава компонентов среды и реактива.

Для нанесения растворов алкалоидов использовали микропипетку с наконечником. Для получения компактных, не расплывающихся, достаточно быстро впитывающихся в агар пятен было предложено наносить исследуемый раствор в количестве 5 мкл на поверхность среды последовательно в ряд. Далее были изучены характер зависимостей цветометрических характеристик

полученных окрашенных пятен от содержания в них алкалоидов. В качестве стандартного образца был выбран алкалоид глауцина гидрохлорид, который является основным алкалоидом мачка желтого (*Glaucium flavum*) семейства *Paravogaseae*. Глауцин относится к группе изохинолиновых алкалоидов и по своему строению и молекулярной массе очень близок к основным алкалоидам чистотела большого и маклейи сердцевидной семейства маковых (*Paravogaseae*). Данный алкалоид не имеет окраски, его растворы бесцветны, однако при взаимодействии с реактивом Драгендорфа-Мунье происходит образование окрашенных продуктов реакции, которые можно наблюдать визуально. Из полученных результатов следует, что линейность наблюдается при использовании рабочих растворов в концентрациях 0,1 – 0,5 мкг/мл. При нанесении более высоких концентраций алкалоида зависимость описывается полиномом 2й степени.

На следующем этапе мы проводили исследования по определению диапазона концентраций суммы алкалоидов травы чистотела, в пределах которого наблюдается линейная зависимость площади пика от содержания суммы алкалоидов. Для этого нами был получен экстракт травы чистотела по разработанной ранее методике [3]. На поверхность агара наносили по 5 мкл рабочих растворов, закрывали чашку Петри крышкой и выдерживали в течение определенного периода времени, а затем сканировали и полученное изображение обрабатывали выше изложенным способом.

Уравнение градуировочного графика выглядит следующим образом (1):

$$y = a + bx = 0,0028 + 2854,8358x \quad (R^2 = 0,9909) \quad (1)$$

Линейность наблюдалась в диапазоне концентраций 0,1 – 0,6 мкг/мл.

Однако, учитывая различия в технических характеристиках планшетных сканеров и при определении содержания алкалоидов в растворах или растительных экстрактах целесообразно использовать внешний стандарт.

Выводы. Разработан экспресс-метод количественного определения алкалоидов в лекарственном растительном сырье, отличающийся быстротой и простотой выполнения.

Методика основана на способности алкалоидов давать окрашенные продукты реакции с реактивом Драгендорфа, модифицированным по Мунье. Реактив Драгендорфа вводили в агар, на поверхность которого с помощью микропипетки наносили исследуемый экстракт, после чего получали цветное изображение с помощью планшетного сканера, а затем изучали характер зависимостей цветометрических характеристик полученных окрашенных пятен от содержания в них алкалоидов.

Литература:

1. Жерносек, А.К. Использование тест-методов в фармацевтическом анализе (обзор литературы) / А.К. Жерносек, И.В. Аварякина // Вестник фармации. – 2009. – Т. 44, №2. – С. 102 – 107. Евгеньев, М.И.
2. Тест-методы и экология / М.И. Евгеньев // Соровский образовательный журнал. – 1999. – № 11. – С. 29 – 34.
3. Погоцкая, А.А. Влияние возрастающих концентраций уксусной кислоты на извлечение алкалоидов из травы чистотела большого – *Chelidonium majus* / А.А. Погоцкая, Г.Н. Бузук, Н.А. Алексеев // Вестник Фармации. – 2009. – Т. 45, № 3. – С. 21-27.